第27卷 第3期 昆 虫 学 报 Vol. 27, No. 3
1984年 8 月 ACTA ENTOMOLOGICA SINICA Aug., 1984

印楝素对亚洲玉米螟幼虫生长发育的影响*

赵善欢 张 兴 刘秀琼 黄端平
(华 南 农 学 院)

摘要 本文报道印楝素对亚洲玉米螟 *Ostrinia furnacalis* Guenée 幼虫生长发育的抑制作用和引起幼虫各器官的病变症状。用含 20ppm 印楝素的人工饲料饲喂亚洲玉米螟 3—4 龄幼虫 2 天，然后换入正常饲料，可使幼虫期显著延长，最后不能化蛹而死亡。印楝素对幼虫的作用是缓慢的，虫体受药后还可发育一个龄期。处理幼虫的行为失常，取食动作逐渐消失，主要靠消耗体内的水分和脂肪来维持生命。幼虫的胸足变黑，胸部出现褐色斑，这些部位的表皮分层不正常，真皮细胞坏死或自溶。处理幼虫的大脑萎缩，生殖器官和前胸腺肿大，前胸腺细胞膜厚而松散，血淋巴中 β-蜕皮酮含量显著降低。从整个中毒症状来看，印楝素可能作用于亚洲玉米螟幼虫的神经和内分泌系统，从而逐渐引起各器官的病变。

关键词 亚洲玉米螟 印楝 印楝素 生长调节

印楝 *Azadirachta indica* A. Juss 为楝科楝属的一种植物。早在几十年前，人们就发现了它对昆虫奇特的拒食作用 (Saxena 等，1979)。并对它的活性成分作了研究，先后从中分离出印楝素 (Azadirachtin) 等 7 种对昆虫有活性的化合物 (Cox, 1981)。据初步统计，印楝物质至少对 71 种昆虫具有拒食和生长发育抑制作用。在对昆虫生长发育抑制作用的研究中，Rembold 等 (1981) 报道，点滴印楝素后，可延长地中海粉螟 *Ephestia kuehniella* Zell. 幼虫期长达 5 个星期。用印楝提取物处理墨西哥豆瓢虫 *Epilachna varivestis* Muls. 幼虫，可引起黑色胸足和褐色胸斑现象 (Schluter, 1981)，还可使雌虫卵巢管中的滋养细胞、滤胞细胞表现出明显的病变 (Schulz, 1981)。印楝叶子、种核提取物对棉红蝽 *Dysdercus cingulatus* Fabr. 的蜕皮和卵黄发生有影响，被认为是保幼激素类似物的作用 (Abraham 等，1979)。用叶子提取物处理咖啡蝽象 *Antestiopsis orbitalis bechuana* Kirk. 后，表现出与蜕皮激素活性有关的现象 (Schmutterer, 1981)。用印楝素点滴大马利筋长蝽 *Oncopeltus fasciatus* Dallas 若虫，则抑制其蜕皮而不能变为成虫，似乎与几丁质合成的抑制作用或保幼激素的活性有关 (Redfern, 1979)。这些报道阐述了使用印楝物质使昆虫中毒后的几种症状表现，但在有关作用机制方面没有较系统的研究，而且在讨论作用机制时说法也不一致；看来因昆虫种类不同而作用不一样。我们在对亚洲玉米螟 *Ostrinia furnacalis* Guenée 幼虫的试验中，发现印楝物质显著抑制幼虫化蛹，延长幼虫期。为了初步探索印楝物质对昆虫的作用机理，我们在 1982 年对经印楝素处理后的亚洲玉米螟幼虫各器官的生理状况作了一系列的观察。

本文于 1983 年 1 月收到。
* 华南农学院电镜室李济和、章潜才等同志协助进行电子显微镜观察，昆虫毒理研究室黄翠玲、刘新清同志参加标本制作，照相等部分工作；中国科学院上海昆虫研究所陈志辅同志协助测定幼虫血淋巴中 β-蜕皮酮的含量，特此致谢。

材 料 和 方 法

试验中所用的印楝素为美国农业部农业研究中心天然活性产品研究室提供，纯度为90%。亚洲玉米螟幼虫，参照周大荣等（1980）的方法于养虫室内用人工饲料饲养。试验时，将印楝素溶于丙酮，配制成含 20ppm 印楝素用以处理人工饲料，对照幼虫的饲料中只加等量的丙酮。接入 3 龄或 4 龄幼虫让其取食两天，然后换上正常新鲜饲料，这样便可成批地得到生长发育受到抑制的幼虫，以供各生理指标的测定。解剖后，用光学显微镜观察幼虫大脑、咽侧体、前胸腺、生殖器官、脂肪体、表皮等器官的形态变化。同时用扫描电子显微镜（日本电子 JSM 25S 型）和透射电子显微镜（菲利浦 EM400 型）观察脂肪体、前胸腺、表皮等器官组织的表面形状和超微结构上的病理变化。用放射免疫分析法（RIA）测定幼虫血淋巴中 β-蜕皮酮的含量。详细方法根据曹梅讯等（1980）发表"20-羟基蜕皮酮的放射免疫分析法"。

结 果 及 讨 论

经印楝素处理后的幼虫长期不化蛹，并随着幼虫期的延长，虫体逐渐收缩（图 1）。最后死亡。用印楝素处理 4 龄幼虫，其体重逐渐下降，处理后第 25 天测定，其平均体重则约为对照的一半（表 1）。当对照组幼虫约有 10% 化蛹时，同时抽提对照和处理幼虫的脂肪，发现处理幼虫的脂肪含量低于对照幼虫的，说明幼虫经印楝素处理后，其体内脂肪的积累过程受到影响，12 天后再进行抽提，处理幼虫的脂肪含量显著降低，约相当于对照幼虫的一半（表 1）。同时对幼虫腹部背面脂肪体用扫描电子显微镜作了观察，发现处理幼虫的脂肪体表面颗粒粗大，表现为融烛状（图版 I：1b）。从图版 I：2b 可以清楚地看见，处理幼虫的胸部皮下脂肪全部消失。此外，在解剖中也发现，处理幼虫的食道干瘪，没有食物存在。这些表现可说明处理幼虫在延长的幼虫期间并不取食，处于饥饿状态，只靠消耗体内的水分和营养，特别是脂肪来维持其生命，一旦这些物质耗尽，幼虫便干缩而死。

表 1 亚洲玉米螟幼虫用印楝素处理后的几种生理变化（1982，广州）

	体重[1]（mg/头）	脂肪含量[2]（mg/头）	头宽值[3]（mm）
正常 5 龄幼虫	81.57a	8.38	1.75
处理幼虫	61.40 b（处理后12天） 46.63 c（处理后25天）	6.52 4.85（隔12天后再抽提）	1.60

注：1. 处理 4 龄幼虫，于不同时间挑出幼虫分头称重，对照组于化蛹前称重，栏中数据为 30 头幼虫体重的平均数；数据后标不同字母表示在方差分析（DMRT 法）中于 1% 水准上差异显著。
2. 处理 4 龄幼虫，各取 130 头幼虫于索氏提取器中用乙醚抽提，浓缩后转入石油醚，以弃去残渣。隔 12 天后再取 130 头处理幼虫进行抽提。
3. 处理 3—4 龄幼虫。

在处理后发育延缓的幼虫中，常有部分幼虫不蜕皮长大，所以头壳较小（图 2）。我们处理了一批 3—4 龄幼虫（约有 40% 左右的幼虫处于 3 龄阶段），在处理后 30 天，取处理幼虫 25 头，测量其头宽值。结果发现，对照组幼虫的平均头宽值大于处理组的，而且经 t-

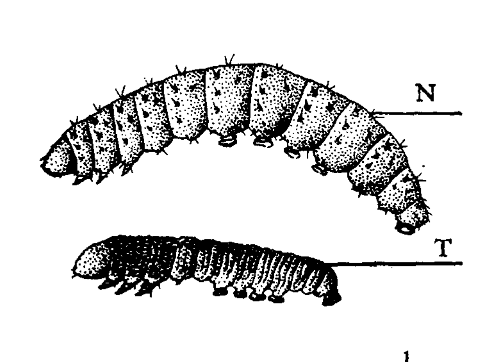


图 1　正常亚洲玉米螟 5 龄幼虫 (N)和用印楝素处理后(已发育至 5 龄)的幼虫(T)。

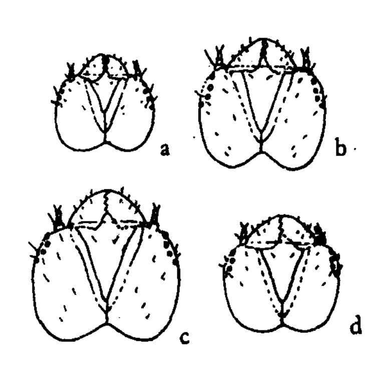


图 2　亚洲玉米螟幼虫的头壳
a. b. c. 分别为 3、4、5 龄正常幼虫的头壳；
d 为用印楝素处理后 25 天幼虫中较小的头壳。

检验，二者之间差异极显著 (表 1)。说明在处理组中，有一部分幼虫还处于 4 龄阶段。可能经印楝素处理过的 3 龄幼虫可以进入 4 龄阶段，但不能蜕皮到 5 龄，处理时幼虫为 4 龄，则可以蜕皮到 5 龄。印楝素对亚洲玉米螟幼虫的发育有一定影响，但作用较缓慢，处理后，幼虫还可以发育一个龄期。

在解剖观察中发现处理幼虫的大脑、咽侧体、前胸腺及生殖器官均有不同程度的病理变化。4 龄幼虫经处理后约 20 天其大脑开始萎缩成一不规则状，咽侧体和心侧体表现为稍肿大并较透明，而和正常幼虫的有明显差别。

亚洲玉米螟 3—4 龄幼虫经印楝素处理约 12—15 天后，前胸腺的外部形态逐渐发生变化，细胞变得肿胀而又肥大。延续的幼虫期越长，这种现象越明显。通过测量，发现处理幼虫前胸腺的细胞个体显著大于对照幼虫的，但二者的细胞个数无明显差异(表 2)。处

表 2　亚洲玉米螟幼虫用印楝素处理后前胸腺细胞及蜕皮酮含量的变化 (1982，广州)

	前　胸　腺　细　胞[1]			血淋巴中 β-蜕皮酮含量[2] (pg/μl)
	个数/头	长 × 宽 (μ/细胞)		
对照幼虫	31.9	83.1	43.5	49.76a
处理幼虫	33.1	110.0	69.2	6.36b

注：1. 处理 3—4 龄幼虫，25 天后解剖用，对照组为 5 龄后期幼虫，各解剖出 20 个完整的前胸腺进行测量。经 "t"-检验后，对照和处理幼虫前胸腺细胞的个数在 5% 水准上无显著差异，但细胞的长和宽度在 1% 水准上差异显著。
2. 处理 4 龄幼虫，等对照组约有 10% 化蛹时，同时抽取对照和处理幼虫血淋巴，每头幼虫抽 5 微升，样本中包括含血淋巴量为 10、20、40 微升 3 个组合，对照共 7 个样本，处理共 11 个样本，平均数后标不同字母表示在方差中于 5% 水准上差异显著。

理幼虫前胸腺的细胞个体一般为正常 5 龄幼虫的 1.5—2 倍，但也有少数的可大 8—10 倍 (图 3)。经透射电子显微镜观察，发现处理幼虫的前胸腺细胞膜比较厚而松散 (图版 I: 3b)，并常和膜内细胞器分离。

α-蜕皮酮主要是由前胸腺分泌的，经酶的作用后转化成有活性的β-蜕皮酮而发动昆虫的蜕皮周期。用印楝素处理幼虫长期不化蛹，是否其体内蜕皮激素的含量发生了变化值得研究。我们用放射免疫分析法（曹梅讯等，1980）对处理幼虫和对照幼虫血淋巴中β-蜕皮酮含量作了初步测定。当对照组幼虫约有 10% 化蛹时，同时抽取对照和处理幼虫的血淋巴进行测定。结果见表 2。

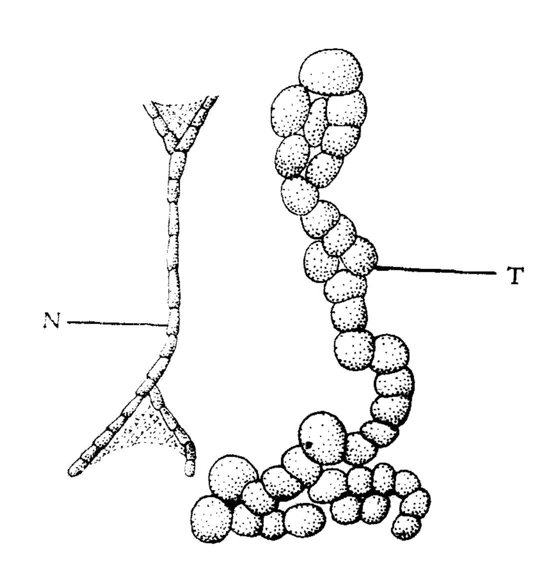


图 3　亚洲玉米螟 5 龄幼虫前胸腺
N 正常幼虫　　T 用印楝素处理后 25 天的幼虫

用印楝素处理过的幼虫的生殖器官（见图 4）也表现有病理变化。解剖处理后 25 天左右的幼虫，可看到雌虫的卵巢显著肿胀，组织松散，其卵巢小管，则比对照幼虫的长而粗，输卵管也较粗；雄虫的睾丸也比对照的肿大，且组织松散，解剖时很易破碎，输精管也较粗。

取食过含印楝素饲料的幼虫，从第三天开始，其胸足末端开始变黑。其后，黑色区域逐渐由足尖向足基部扩展，直至整个胸足全成黑色。处理后 15 天左右，幼虫第二、三胸节逐渐出现褐色斑，有时可扩展到第一腹节，胸部的褐色斑可以硬化，最后幼虫全身表皮成褐红色。用透射电子显微镜对已变黑的胸足端部表皮作了观察，和对照相比，好象是处理幼虫的上表皮变厚，而其内表皮却比较薄，且找不到清楚的微孔道，真皮细胞全部坏死。用光学显微镜观察了幼虫胸部的表皮组织。处理幼虫的真皮层可能因为自溶而消失，仅能看到部分残基（图版 I：2b）。

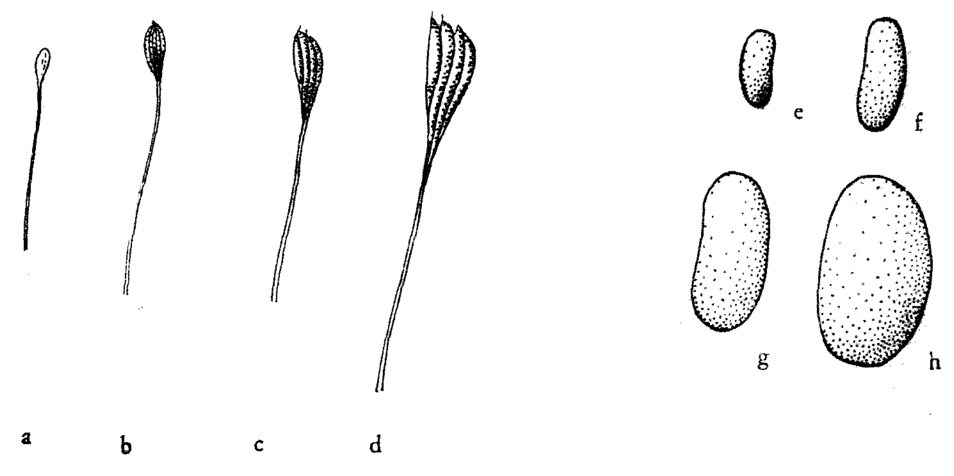


图 4　亚洲玉米螟幼虫生殖器官
a，b．c．为 3、4、5 龄正常幼虫的卵巢；　d．用印楝素处理后 25 天幼虫的卵巢；
e．f．g．为 3、4、5 龄正常幼虫的睾丸；　h．用印楝素处理后 25 天幼虫的睾丸。

褐色斑部位无表皮组织存在，而为大块的褐色物质所覆盖。

从表皮的病变情况可以看出，虽然幼虫经印楝素处理后还可以发育一个龄期，但在这期间其体内生理活动已表现出不正常状态。表皮层次的不正常分布表明在蜕皮时，真皮细胞的分泌功能已受到干扰，以及后来真皮细胞的坏死和自溶，可能是受到印楝素的影响而引起的。Schluter (1981) 在印楝素对墨西哥豆瓢虫幼虫的试验中也曾发现真皮细胞自溶的现象，并在表皮变色部位皮层下发现有大块的周界分明的黑色体存在，而我们在亚洲玉米螟幼虫的试验中则未看到。另外，蜕皮激素在昆虫的蜕皮和表皮的形成过程中所起的作用，目前的看法还不统一(钦俊德，1981)。所以对于表皮的病理变化方面还须做进一步的研究。

从以上的结果可初步看出，亚洲玉米螟幼虫取食了一定量含印楝素的人工饲料后，其体内多种器官均可不同程度的受到影响，并以各种形式逐渐地表现出来。关于印楝物质干扰昆虫生长发育机理方面的研究，国外已有一些报道。从对几种半翅目昆虫的试验结果来看，似与蜕皮激素或保幼激素的活性有关 (Abraham 等，1979；Schmutterer，1981；Redfern，1979)。但在对地中海粉螟、墨西哥豆瓢虫的有关试验中，试虫中毒后所表现出的某些症状还不能确切地表明是哪一种激素受到干扰所致(Rembold，1981；Schluter，1981；Schulz，1981)。在本试验中，虽然已明显地观察到印楝素影响前胸腺在组织形态上所表现出的病理变化，并测定到 β-蜕皮酮含量低于对照幼虫，但还没有搞清楚是在 α-蜕皮酮的分泌过程，还是由 α-蜕皮酮转化成 β-蜕皮酮的过程受到干扰。另外对保幼激素的变化没有进行测定。幼虫受药后长期不化蛹，肯定与这两种激素的作用有关，但是试虫中毒后所表现出的症状是比较系统性的。例如大脑的萎缩，影响脂肪积累等方面还不能单从保幼激素或蜕皮激素受到干扰来解释。特别是我们在试验中观察到，幼虫在处理后 3—5 天，行为便受到干扰，行动失调，不能爬上玻璃饲养瓶的瓶壁，而只在瓶底蠕动。这明显地不同于正常幼虫。幼虫的取食动作消失，在瓶内无粪便出现，饲料上没有被取食的痕迹，解剖结果也证明了这一点。结合处理幼虫大脑萎缩这一事实，初步表明印楝素可能影响亚洲玉米螟幼虫的神经系统。

结扎老龄幼虫的头胸交界处可以得到"永久性"幼虫(郭郛等，1964)。而且延长的幼虫期基本和经印楝素处理的幼虫相似，最后也因体内水分和脂肪耗尽而死亡。但结扎所得到的"永久性"幼虫一直到最后死亡，其表皮不变色，并无黑足及褐斑出现，而且生殖系统也无明显变化，不同于用印楝素处理的幼虫。从这些可以看到印楝素对亚洲玉米螟幼虫的作用是复杂的。所以，综合试验结果，我们认为试验中观察到幼虫的黑足、胸斑，脂肪、体重及生殖系统的病理变化，延长幼虫期，抑制化蛹等现象可能只是虫体受药后的第二性反应，而神经及内分泌系统的中毒才是第一性的。用印楝素处理亚洲玉米螟幼虫，可能影响神经系统和内分泌系统，使整个虫体麻痹，体内各生理活动处于混乱状态，最后导致各器官逐渐表现出系统性的病理变化。

参　考　文　献

周大荣、王玉英、刘宝兰、剧正理　1980　玉米螟人工大量繁殖研究。植保学报 7(2):113－22。
钦俊德　1981　昆虫生理研究进展(第二集)。科学出版社。

郭 郛、潘承湘 1964 脑及前胸腺对蓖麻蚕化蛹的作用。动物学报 **16**(1):13—20。

曹梅讯、朱湘雄、陈志辅、夏克敏 1980 20-羟基蜕皮酮的放射免疫分析法及其在蓖麻蚕蛹上的应用。昆虫学研究集刊 (1): 1—6。上海科学技术出版社。

Abraham, C. C. and B. Ambika 1979 Effects of leaf and kernel extracts of neem on moulting and vitellogenesis in *Dysdercus cingulatus* Fabr. (Heteroptera: Pyrrhocoridae). *Current Science* 48 (12): 554—6.

Cox, A. 1981 Neem—pesticide potential. *International Pest Control* 23(3): 68—71.

Redfern, R. E. 1979 Molting inhibitory effects of azadirachtin on large milkweed bug. U. S. Department of Agriculture, Science and Education Administration Agricultral Results ARR-NE-5 October.

Rembold, H., G. K. Sharma and Ch. Czoppelt 1981 Growth-regulating activity of azadirachtin in two holometabolous insects. In "Natural Pesticides from the Neem Tree *(Azadirachta indica* A. Juss)". Proc. Ist Int. Neem Conf., W. Germany, June, 1980, pp. 121—128.

Saxena, R. C., N. J. Liquido and H. D. Justo 1979 Neem seed oil, an antifeedant for brown planthopper coutrol. Paper presented at the 10th Annual Conference of the Pest Control Council of Philippines held at Manila City, May 2—5, 1979.

Schluter, U. 1981 Histological observation on the phenomenon of black legs and thoracic spots: effects of pure fractions of neem kernel extracts on *Epilachna varivestis.* In "Natural Pesticides from the Neem Tree (*Azadirachta indica* A. Juss)". Proc. 1st Int. Neem Conf., W. Germany, June, 1980, pp. 97—104.

Schmutterer, H. 1981 The years of neem research in the Federal Republic of Germany, In "Natural Pesticides from the Neem Tree (*Azadirachta indica* A. Juss)". Proc. 1st Neem Conf., W. Germany, June, 1980. pp. 21—32.

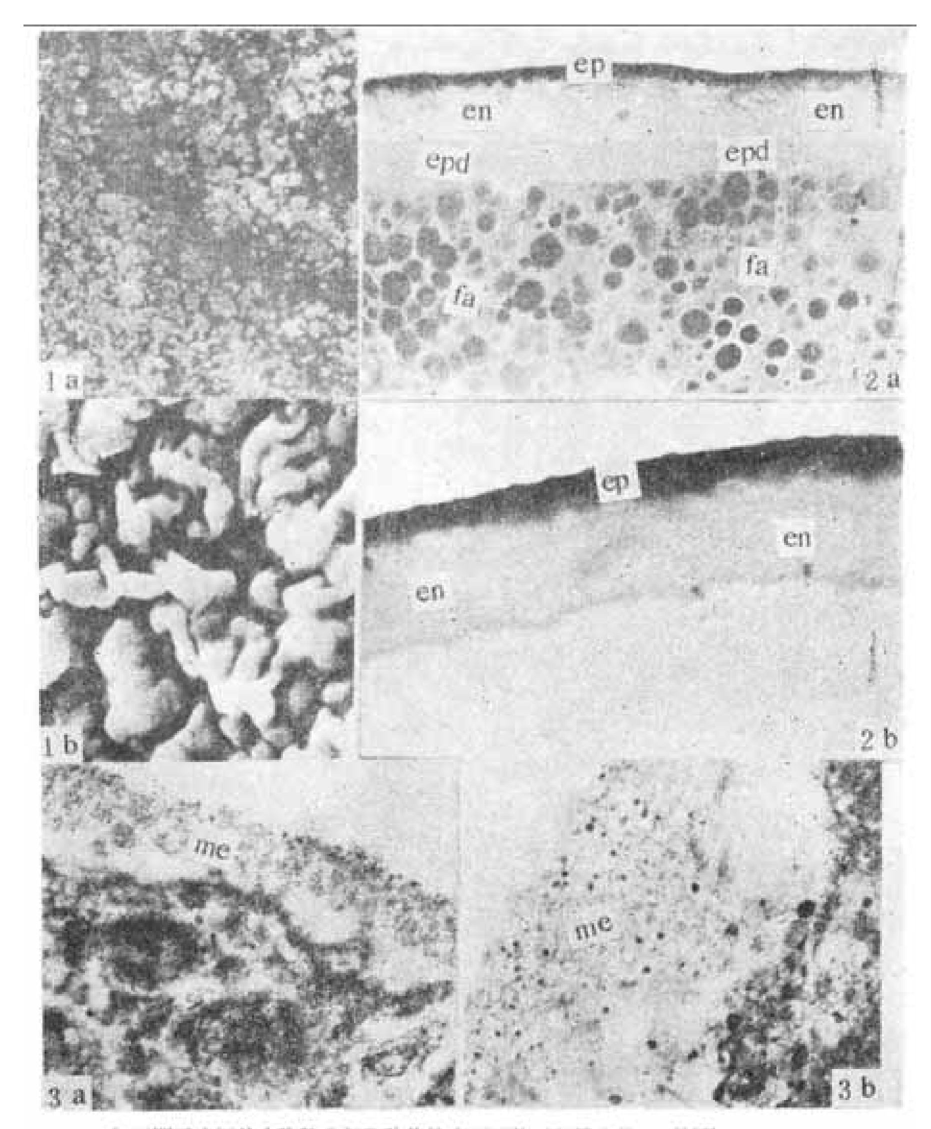
Schulz, W D. 1981 Pathological alterations in the ovaries of *Epilachna varivestis* induced by an extract from neem kernels. In "Natural Pesticides from the Neem Tree (*Azadirachta indica* A. Juss)". Proc. 1st Int. Neem Conf., W. Germany, June, 1980. pp. 81—96.

GROWTH-DISRUPTIVE EFFECTS OF AZADIRACHTIN ON THE LARVAE OF THE ASIATIC CORN BORER (*OSTRINIA FURNACALIS* GUENÉE)

CHIU SHIN-FOON ZHANG XING LIU SIU-KING HUANG DUAN-PING
(South-China Agricultural College)

A seres of experiments were conducted on the effects of azadirachtin at concentration of 20 ppm mixed with artificial diet on the growth of the larvae of the Asiatic corn borer *Ostrinia furnacalis* Guenee. The third or fourth instar larvae were fed with the diet containing azadirachtin for two days, then, the normal diet was given. Results of our experiments show that, after treatment, the larval period was markedly prolonged, pupation was inhibited, the larval body shrank gradually, the fat content reduced and black thoracic leg and brown thoracic spot were observed. The treated larvae finally died. Upon examination with light and electron microscopes, it was found that the fat body of the treated larvae appeared abnormal, necrosis was found in the epidermal cells of thoracic legs and the thoracic epidermal cells disappeared, the cuticle did not show clear layers, the ovaries and testes swelled markedly. The prothoracic gland cells greatly expanded and, the cell membrane became thicker and looser. The content of the β-ecdysone in the hemolymph of the treated larvae determined by radioimmunoassay was markedly lower (6.36pg/μl) than the control (49.76 pg/μl). Our observations showed that the nerue and endocrine systems of the larvae were affected by azadirachtin.

Key words *Ostrinia furnacalis*—*Azadirachta indica*—Azadirachtin—growthregulation



1. 亚洲玉米螟幼虫腹腔背部脂肪体的表面形状，(扫描电镜，×4000)
   1a. 正常5龄后期幼虫脂肪。
   1b. 用印楝素处理后20天的幼虫脂肪。
2. 亚洲玉米螟5龄后期幼虫胸部表皮，(×500)
   2a. 正常幼虫胸部表皮。
   2b. 用印楝素处理后25天幼虫的胸部表皮。
   ep. 上表皮　en. 内表皮　epd. 真皮细胞　n. 细胞核　b. 基底膜
   fa. 表皮下脂肪
3. 亚洲玉米螟5龄后期幼虫的前胸腺细胞膜，(透射电镜，×80,000)
   3a. 正常幼虫前胸腺细胞膜。
   3b. 用印楝素处理后20天幼虫的前胸腺细胞膜。
   me. 细胞膜。